

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年11 月18 日 (18.11.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/098632 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A61K 38/17, 35/20, (74) 代理人: 藤野 清也 (FUJINO, Seiya); 〒105-0001 東京
A61P 17/00, 43/00, A61K 7/00, 7/48 都 港区 虎ノ門2丁目7番7号 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/005707 (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
(22) 国際出願日: 2003 年5 月7 日 (07.05.2003) DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
(25) 国際出願の言語: 日本語 LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO,
NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
(26) 国際公開の言語: 日本語 TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU,
ZA, ZM, ZW.
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 雪印乳
業株式会社 (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO.,
LTD.) [JP/JP]; 〒065-0043 北海道 札幌市 東区苗穂町6
丁目1番1号 Hokkaido (JP). (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ,
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 森田 如一
(MORITA, Yoshikazu) [JP/JP]; 〒350-1167 埼玉県
川越市 大袋新田 846-11 Saitama (JP). 高田 幸宏
(TAKADA, Yukihiro) [JP/JP]; 〒350-0811 埼玉県 川越
市 小堤62-22 Saitama (JP). 鳥羽 保宏 (TOBA, Yasuhiro)
[JP/JP]; 〒180-0003 東京都 武蔵野市 吉祥寺南町
3-1-15 Tokyo (JP). 大井 航 (OOI, Wataru) [JP/JP]; 〒
350-1167 埼玉県 川越市 大袋新田 846-11 Saitama (JP).
川上 浩 (KAWAKAMI, Hiroshi) [JP/JP]; 〒350-1142 埼
玉県 川越市 藤間204-5 Saitama (JP).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: SKIN COLLAGEN PRODUCTION PROMOTER

(54) 発明の名称: 皮膚コラーゲン産生促進剤

(57) Abstract: It is intended to provide a skin collagen production promoter, foods and drinks for promoting skin collagen production and cosmetics for promoting skin collagen production which are useful in preventing skin chapping, wrinkles, worsening in skin fitness, etc. Namely, a skin collagen production promoter, foods and drinks for promoting skin collagen production and cosmetics for promoting skin collagen production which contain as the active ingredient(s) a milk-origin basic protein fraction and/or a basic peptide fraction obtained by digesting the above-described basic protein fraction with a protein digesting enzyme such as pepsin or pancreatin. The above basic protein fraction and basic peptide fraction have an effect of increasing skin collagen level.

(57) 要約: 皮膚の荒れ、シワ、弾性低下等を防止するのに有用な皮膚コラーゲン産生促進剤、皮膚コラーゲン産生促進用飲食品及び皮膚コラーゲン産生促進用化粧料を提供する。 皮膚コラーゲン産生促進剤、皮膚コラーゲン産生促進用飲食品及び皮膚コラーゲン産生促進用化粧料は、乳由来の塩基性タンパク質画分及び/またはその塩基性タンパク質画分をペプシンやパンクレアチンなどのタンパク質分解酵素で分解して得られる塩基性ペプチド画分を有効成分とする。この塩基性タンパク質画分や塩基性ペプチド画分には、皮膚のコラーゲン量を増加させる働きがある。



WO 2004/098632 A1

明 細 書

皮膚コラーゲン産生促進剤

〔技術分野〕

本発明は、皮膚の荒れ、シワ、弾性低下等を防止するのに有用な皮膚コラーゲン産生促進剤、皮膚コラーゲン産生促進用飲食品及び皮膚コラーゲン産生促進用化粧料に関する。

〔背景技術〕

近年、皮膚のメカニズムに関する研究が進められ、皮膚の乾燥感や肌荒れの原因としてマクロ的には、加齢による新陳代謝の減衰によるもののほかに、太陽光（紫外線）、乾燥、酸化等の作用が複雑に関与していることが確認されてきた。これらの因子による作用によって、真皮の最も主要なマトリックス成分であるコラーゲン繊維が顕著に減少していることが明らかとなってきた。コラーゲン繊維によって保たれていた皮膚のハリや弾力性といった張力保持機構が紫外線等の作用によって破壊されると、皮膚はシワやたるみを増した状態になる。また、コラーゲンはその分子中に水分を保持することができ、それにより、皮膚をしっとりとした状態に保つことにも役立っているから、外的因子により、コラーゲンが破壊されると肌は乾燥し、荒れた状態になる。

以上のことから、真皮層の主要な成分の一つであるコラーゲンの生合成を促進させることにより、皮膚のシワやたるみを防止でき、しかも安全性の点でも問題のない皮膚コラーゲン産生促進剤が望まれていた。

〔発明の開示〕

本発明者らは、これらの課題を解決するために、広く食品素材に含まれている皮膚コラーゲン産生促進作用を示す物質について、鋭意、探索を進めていたところ、乳由来の塩基性タンパク質画分あるいはその塩基性タンパク質画分をペプシンやパンクレアチンなどのタンパク質分解酵素で分解して得られる塩基性ペプチド画分が、皮膚のコラーゲン量を増加させることができることを見出した。そして、この塩基性タンパク質画分や塩基性ペプチド画分を皮膚コラーゲン産生促進

剤、皮膚コラーゲン産生促進用飲食品及び皮膚コラーゲン産生促進用化粧料の有効成分として利用できることを見出し、本発明を完成するに至った。

したがって、本発明は、この皮膚コラーゲン産生促進活性を有する乳由来の塩基性タンパク質画分及び／または塩基性ペプチド画分を有効成分とする皮膚コラーゲン産生促進剤を提供することを課題とする。また、本発明は、これらの画分を配合した皮膚コラーゲン産生促進用飲食品や皮膚コラーゲン産生促進用化粧料を提供することを課題とする。

本発明で皮膚コラーゲン産生促進剤とは、経口投与或いは塗布等により、皮膚コラーゲン産生促進効果を発揮するものを言うものとする。又、本発明では、この皮膚コラーゲン産生促進剤のうち、粉末剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、ドリンク剤などに製剤化してそのまま、あるいは製剤化した後、栄養剤や飲食品などに配合して経口投与するものを皮膚コラーゲン産生促進用飲食品と言うものとする。又、本発明では、皮膚コラーゲン産生促進剤のうち、軟膏、ゲル、クリーム、スプレー剤、貼付剤、ローション等に製剤化して肌に塗布するものを皮膚コラーゲン産生促進用化粧料と言うものとする。又、本発明では、医薬品であるが、製剤化してそのまま経口投与するものを便宜上、前記皮膚コラーゲン産生促進用飲食品の中に含め、医薬品であるが、製剤化して肌に塗布するものを便宜上、前記皮膚コラーゲン産生促進用化粧料の中に含めるものとする。

[発明を実施するための最良の形態]

本発明の皮膚コラーゲン産生促進剤の特徴は、乳由来の塩基性タンパク質画分及び／またはその塩基性タンパク質画分をタンパク質分解酵素で分解して得られる塩基性ペプチド画分を有効成分とすることにある。この乳由来の塩基性タンパク質画分は、牛乳、人乳、山羊乳、羊乳等の哺乳類の乳から得られるものであり、また、この塩基性ペプチド画分は、乳由来の塩基性タンパク質画分にタンパク質分解酵素を作用させて得ることができるものである。

この乳由来の塩基性タンパク質画分は、後述する試験例1～3に示したように次の性質を有している。

- 1) ソジウムドデシルサルフェートポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) による測定で、分子量 3,000～80,000 の範囲にある数種のタンパク

質よりなる。

2) 95 重量%以上がタンパク質である。

3) タンパク質は主としてラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼよりなる。

4) タンパク質のアミノ酸組成は、リジン、ヒスチジン、アルギニン等の塩基性アミノ酸を 15 重量%以上含有する。

このような塩基性タンパク質画分は、例えば、脱脂乳や乳清等の乳原料を陽イオン交換樹脂と接触させて塩基性タンパク質を吸着させ、この樹脂に吸着した塩基性タンパク質画分を 0.1~1M の塩濃度の溶出液で溶出し、この溶出画分を回収し、逆浸透 (RO) 膜や電気透析 (ED) 法等により脱塩及び濃縮し、必要に応じて乾燥することにより得ることができる。

また、乳由来の塩基性タンパク質画分を得る方法としては、乳または乳由来の原料を陽イオン交換体に接触させて塩基性タンパク質を吸着させた後、この陽イオン交換体に吸着した塩基性タンパク質画分を、pH5 を超え、イオン強度 0.5 を超える溶出液で溶出して得る方法 (特開平 5-202098 号公報)、アルギン酸ゲルを用いて得る方法 (特開昭 61-246198 号公報)、無機の多孔性粒子を用いて乳清から得る方法 (特開平 1-86839 号公報)、硫酸化エステル化合物を用いて乳から得る方法 (特開昭 63-255300 号公報) 等が知られており、本発明では、このような方法で得られた塩基性タンパク質画分を用いることができる。

また、乳由来の塩基性ペプチド画分は、塩基性タンパク質画分と同様のアミノ酸組成を有しており、例えば、上記の方法で得られた乳由来の塩基性タンパク質画分にペプシン、トリプシン、キモトリプシン、パンクレアチン等のタンパク質分解酵素を作用させることにより、平均分子量 4,000 以下の塩基性ペプチド組成物として得ることができる。分子量の下限は 500 以上が好ましい。

本発明の皮膚コラーゲン産生促進剤は、経口投与或いは塗布することにより皮膚コラーゲン産生促進効果を発揮する。本発明の皮膚コラーゲン産生促進剤を経口投与するに際しては、有効成分である乳由来の塩基性タンパク質画分あるいは塩基性ペプチド画分をそのままの状態を用いることもできるが、常法に従い、粉末剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、ドリンク剤等に製剤化して用いることもできる。本発明において、粉末剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤等の経口剤は、例えば、

澱粉、乳糖、白糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩類等を用いて常法によって製剤化される。この種の製剤には、前記賦形剤の他に、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、着色料、香料等を使用することができる。より具体的には、結合剤としては、例えば、澱粉、デキストリン、アラビアガム末、ゼラチン、ヒドロキシプロピルスターチ、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、エチルセルロース、結晶性セルロース、ポリビニルピロリドンが挙げられる。又、崩壊剤としては、例えば、澱粉、ヒドロキシプロピルスターチ、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム、結晶性セルロース等が挙げられる。界面活性剤としては、大豆レシチン、蔗糖脂肪酸エステル等が、滑沢剤としては、タルク、ロウ、蔗糖脂肪酸エステル、水素添加植物油等が、流動性促進剤としては無水ケイ酸、乾燥水酸化アルミニウム、ケイ酸マグネシウム等が挙げられる。

さらには、これらの塩基性タンパク質画分や塩基性ペプチド画分をそのままあるいは製剤化した後、これを栄養剤や飲食品等に配合することも可能である。また、ビタミンC等従来からコラーゲン産生に有効な作用を持つと考えられている成分とともに塩基性タンパク質画分や塩基性ペプチド画分を配合すれば、一層の皮膚コラーゲン産生促進作用が期待できる。なお、乳由来の塩基性タンパク質画分あるいは塩基性ペプチド画分は、比較的熱に対して安定であるので、乳由来の塩基性タンパク質画分あるいは塩基性ペプチド画分を含む原料を通常行われるような条件で加熱殺菌することも可能である。

本発明の皮膚コラーゲン産生促進剤を塗布するに際しては、その使用目的に応じて、通常用いられる公知の成分に配合することによって、液剤、固形剤、半固形剤等の各種剤形に調製することが可能で、好ましい組成物として軟膏、ゲル、クリーム、スプレー剤、貼付剤、ローション、粉末剤等が挙げられる。例えば、本発明の皮膚コラーゲン産生促進剤を、ワセリン等の炭化水素、ステアリルアルコール、ミリスチン酸イソプロピル等の高級脂肪酸低級アルキルエステル、ラノリン等の動物性油脂、グリセリン等の多価アルコール、グリセリン脂肪酸エステル、モノステアリン酸ポリエチレングリコール等の界面活性剤、無機塩、ロウ、

樹脂、水及び要すればパラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸ブチル等の保存料に混合することによって、皮膚コラーゲン産生促進用化粧料や医薬品を製造することができる。

本発明の皮膚コラーゲン産生促進剤の経口投与による有効量は、その製剤形態、投与方法、使用目的、及びこれを適用される患者の年齢、体重、病状により適宜規定され一定でないが、ラットを用いた動物実験の結果によると、皮膚コラーゲン産生促進作用を示すためには塩基性タンパク質画分及び／または塩基性ペプチド画分をラット体重 1kg 当たり 20mg 以上摂取する必要があることが判った。したがって、外挿法によると、通常、成人一人当たり一日 20mg 以上の塩基性タンパク質画分及び／または塩基性ペプチド画分を摂取すれば効果が期待できるので、この必要量を確保できるよう飲食品に配合するか、或いは、医薬として投与すれば良い。なお、投与は必要に応じて一日数回に分けて行うことも可能である。

本発明の皮膚コラーゲン産生促進剤の塗布による有効量は、剤形により異なるが、適用する組成物全量を基準として、好ましくは、0.001～2 重量%となるように、塩基性タンパク質画分あるいは塩基性ペプチド画分を配合すれば良い。ただし、入浴剤のように使用時に希釈されるものは、さらに配合量を増やすことができる。

次に、実施例及び試験例を示して本発明を詳細に説明するが、これらは単に本発明の実施態様を例示するのみであり、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。

〔実施例 1〕

陽イオン交換樹脂のスルホン化キトパール（富士紡績株式会社製）400g を充填したカラム（直径 5cm×高さ 30cm）を脱イオン水で十分洗浄した後、このカラムに未殺菌脱脂乳 40 リットル（pH 6.7）を流速 25ml/min で通液した。通液後、このカラムを脱イオン水で十分洗浄し、0.98M 塩化ナトリウムを含む 0.02M 炭酸緩衝液（pH 7.0）で樹脂に吸着した塩基性タンパク質画分を溶出した。そして、この溶出液を逆浸透（RO）膜により脱塩して、濃縮した後、凍結乾燥して粉末状の塩基性タンパク質画分 21g を得た。このようにして得られた塩基性タンパク質画分は、そのまま皮膚コラーゲン産生促進剤として使用可能である。

〔試験例 1〕

実施例 1 で得られた塩基性タンパク質画分について、ソジウムドデシルサルフェートポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)により測定したところ、分子量は 3,000~80,000 の範囲に分布していた。

〔試験例 2〕

実施例 1 で得られた塩基性タンパク質画分について、成分組成を分析した。その結果を表 1 に示す。この表に示すとおり、この画分のほとんどはタンパク質である。

表 1

水分	1.06 (重量%)
タンパク質	96.50
脂肪	0.56
灰分	0.27
その他	1.61

〔試験例 3〕

実施例 1 で得られた塩基性タンパク質画分について、6N 塩酸で 110℃、24 時間加水分解した後、アミノ酸分析装置 (L-8500 型、日立製作所製) でそのアミノ酸組成を分析した。その結果を表 2 に示す。この塩基性タンパク質画分には、アミノ酸組成中、15 重量%以上の塩基性アミノ酸が含まれている。

表 2

アスパラギン酸	10.1 (重量%)
セリン	5.3
グルタミン酸	12.3

プロリン	4.7
アラニン	5.7
ロイシン	10.2
リジン	8.4
ヒスチジン	2.5
アルギニン	7.2
その他	33.6

[実施例 2]

陽イオン交換樹脂の S P トヨパール (東ソー株式会社製) 30kg を充填したカラム (直径 100cm×高さ 10cm) を脱イオン水で十分洗浄した後、このカラムに 121℃ で 30 秒間加熱殺菌したチーズホエー 3t (pH 6.2) を流速 10 リットル/min で通液した。通液後、このカラムを脱イオン水で十分洗浄し、0.9M 塩化ナトリウムを含む 0.1M クエン酸緩衝液 (pH 5.7) で樹脂に吸着した塩基性タンパク質画分を溶出した。そして、この溶出液を電気透析 (ED) 法により脱塩し、濃縮した後、凍結乾燥して粉末状の塩基性タンパク質画分 183g を得た。このようにして得られた塩基性タンパク質画分は、そのまま皮膚コラーゲン産生促進剤として使用可能である。

[実施例 3]

実施例 2 で得られた塩基性タンパク質画分 50g を蒸留水 10 リットルに溶解した後、パンクレアチン (シグマ社製) を 1% 添加し、37℃ で 2 時間反応させた。反応後、80℃ で 10 分間加熱処理して酵素を失活させた後、濃縮し、凍結乾燥して粉末状の塩基性ペプチド画分 48.3g を得た。このようにして得られた塩基性ペプチド画分は、そのまま皮膚コラーゲン産生促進剤として使用可能である。

[試験例 4]

実施例 2 で得られた塩基性タンパク質画分及び実施例 3 で得られた塩基性ペプチド画分について、ラットを用いた動物実験により皮膚コラーゲン産生促進作用を調べた。7 週齢の Wistar 系雄ラットを、生理食塩水投与群 (A 群)、実施例 2 で得られた塩基性タンパク質画分をラット体重 1kg 当たり 20mg 投与する群 (B 群)、

実施例2で得られた塩基性タンパク質画分をラット体重 1kg 当たり 200mg 投与する群 (C群)、実施例3で得られた塩基性ペプチド画分をラット体重 1kg 当たり 20mg 投与する群 (D群)、実施例3で得られた塩基性ペプチド画分をラット体重 1kg 当たり 200mg 投与する群 (E群) の5試験群 (n=6) に分け、それぞれを毎日1回ゾンデで投与して10週間飼育した。

皮膚のコラーゲン量については、ラットの真皮をNimniらの方法 (Arch. Biochem. Biophys., 292 頁, 1967 年 参照) に準じて処理した後、可溶性画分に含まれるヒドロキシプロリン量を測定した。ヒドロキシプロリンはコラーゲンのみに含まれる特殊なアミノ酸で、コラーゲンを構成する全アミノ酸の約 10% を占めることからコラーゲン量の推定ができる (浅野隆司ら, Bio Industry, 12 頁, 2001 年 参照)。その結果を表3に示す。

表 3

群	ヒドロキシプロリン量 ($\mu\text{g/ml}$)
A群	0.35 ± 0.03^a
B群	0.72 ± 0.07^{bc}
C群	0.91 ± 0.09^d
D群	0.63 ± 0.06^b
E群	0.84 ± 0.08^{cd}

数値は、平均値±標準偏差 (n=6) を示す。

また、異なる文字間で有意差があることを示す ($p < 0.05$)。

これによると、10週間後の可溶性画分中ヒドロキシプロリン量は、A群に比べ、B群、C群、D群及びE群で有意に高い値を示した。

このことから、塩基性タンパク質画分及び塩基性ペプチド画分には皮膚コラーゲン産生促進作用があることが明らかとなり、皮膚コラーゲン産生促進剤として

有用であることが示された。

また、この皮膚コラーゲン産生促進作用は塩基性タンパク質画分または塩基性ペプチド画分をラット体重1kg当たり最低20mg投与した場合に認められることが明らかとなった。

〔実施例4〕

表4に示す配合の皮膚コラーゲン産生促進用飲料を常法により製造した。製造した飲料の風味は良好で、常温1年間保存によっても風味が劣化することはなく、沈殿等の問題もなかった。

表 4

混合異性化糖	15.0 (重量%)
果汁	10.0
クエン酸	0.5
塩基性タンパク質画分粉末 (実施例2)	0.1
香料	0.1
ミネラル混合	0.1
水	74.2

〔実施例5〕

表5に示す配合のドウを常法により作製し、成形した後、焙焼して皮膚コラーゲン産生促進用ビスケットを製造した。

表 5

小麦粉	50.0 (重量%)
砂糖	20.0
食塩	0.5

マーガリン	12.5
卵	12.5
水	2.5
ミネラル混合	0.8
塩基性タンパク質画分粉末（実施例2）	1.2

〔実施例6〕

表6に示す配合の皮膚コラーゲン産生促進剤を常法により製造した。

表6

含水結晶ぶどう糖	83.5（重量%）
塩基性タンパク質画分粉末（実施例2）	10.0
ミネラル混合	5.0
シュガーエステル	1.0
香料	0.5

〔試験例5〕

実施例2で得られた塩基性タンパク質画分及び実施例3で得られた塩基性ペプチド画分について、正常ヒト線維芽細胞株〔白人女性の皮膚より採取されたCCD45SK(ATCCRL 1506)]を用いた実験により皮膚コラーゲン産生促進作用を調べた。10容量%ウシ胎児血清(以下FBSと略記)含有変法イーグル培地(MEM、10-101、大日本製薬社製)を用いて、正常ヒト線維芽細胞株を 4×10^4 個/ウェル/0.4mlとなるように24ウェルプレートに播種して、5%炭酸ガス、飽和水蒸気下、37℃で24時間培養した後、0.6容量%FBS含有変法イーグル培地に置換した。そして、実施例2で得られた塩基性タンパク質画分及び実施例3で得られた塩基性ペプチド画分を、各ウェルに0.1容量%となるように添加して、24時間培養した後、 β

一アミノプロピオニトリルを $50 \mu\text{g/ml}$ 、トリチウム-L-プロリンを $1 \mu\text{Ci/ml}$ となるように添加して、さらに 24 時間培養して培養液を得た。このようにして得られた培養液より、Webster らの方法 (Analytical Biochemistry, 220 頁, 1979 年参照) に従いコラーゲン画分を分画し、コラーゲン画分に取り込まれた放射能を測定した。なお、対照として、塩基性タンパク質画分及び塩基性ペプチド画分を添加しないで同様の試験を行った。その結果を表 7 に示す。

表 7

コラーゲン産生 (%)	
対照	100 ± 2.1^a
塩基性タンパク質画分粉末 (実施例 2)	212 ± 4.1^c
塩基性ペプチド画分粉末 (実施例 3)	196 ± 3.2^b

数値は、平均値 \pm 標準偏差 ($n=6$) を示す。

また、異なる文字間で有意差があることを示す ($p<0.05$)。

これによると、塩基性タンパク質画分及び塩基性ペプチド画分を添加した群は、塩基性タンパク質画分及び塩基性ペプチド画分を添加していない群 (対照) に比べていずれも 2 倍程度の皮膚コラーゲン産生促進能を示した。

このことから、塩基性タンパク質画分及び塩基性ペプチド画分には、皮膚線維芽細胞に働きかけ、皮膚コラーゲン産生促進作用があることが明らかとなり、皮膚コラーゲン産生促進剤として有用であることが示唆された。

[実施例 7]

表 8 に示す配合の化粧水を常法により製造した。

表 8

グリセリン	3 (重量%)
1,3-ブチレングリコール	3
モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン(20E. 0.)	0.5
パラオキシ安息香酸メチル	0.15
クエン酸	0.1
クエン酸ソーダ	1
香料	0.05
塩基性タンパク質画分粉末 (実施例 2)	0.05
精製水	92.15

〔実施例 8〕

表 9 に示す配合のクリームを常法により製造した。

表 9

流動パラフィン	5 (重量%)
サラシミツロウ	4
セタノール	3
スクワラン	10
ラノリン	2
ステアリン酸	1
モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン(20E. 0.)	1.5
モノステアリン酸グリセリル	3
1,3-ブチレングリコール	6
パラオキシ安息香酸メチル	1.5
香料	0.1

塩基性タンパク質画分粉末（実施例 2）	0.5
精製水	62.4

[試験例 6]

実施例 7 で得られた化粧水及び実施例 8 で得られたクリームを用いて、実使用テストを行った。比較品としては、塩基性タンパク質画分を除いた以外は実施例 7 及び 8 と同じ配合のものを用いた。

顔面のタルミや小ジワが認められる乾燥肌を有する成人女子 20 人を、それぞれ 10 人ずつ無作為に 2 群（A、B 群）に、また、手に肌荒れが認められる女子 20 人を、それぞれ 10 人ずつ無作為に 2 群（C、D 群）に分け、A 群の顔面には本発明品の化粧水を、B 群の顔面には比較品の化粧水を、C 群の手指には本発明品のクリームを、D 群の手指には比較品のクリームを、それぞれ 1 日 2 回通常の使用状態と同様に 10 日間塗布してもらった。その結果、本発明品の化粧水は、比較品の化粧水に比べて、乾燥感の改善、肌荒れ改善が顕著であり、皮膚コラーゲン産生促進効果に優れていることが実証された。また、本発明品のクリームについても、比較品のクリームに比べて、顕著な改善がみられ、肌荒れなどの自然増悪抑制効果を有することが明らかとなった。

[産業上の利用可能性]

本発明により乳由来の塩基性タンパク質画分及び／または塩基性ペプチド画分を有効成分とする皮膚コラーゲン産生促進剤、皮膚コラーゲン産生促進用飲食品及び皮膚コラーゲン産生促進用化粧料が提供される。

本発明の皮膚コラーゲン産生促進剤、皮膚コラーゲン産生促進用飲食品及び皮膚コラーゲン産生促進用化粧料は、皮膚のコラーゲン産生を促進させる作用を有し、皮膚のシワやたるみ、乾燥感や肌荒れの予防や治療に有用である。

請 求 の 範 囲

1. 乳由来の塩基性タンパク質画分及び／または乳由来の塩基性タンパク質画分をタンパク質分解酵素で分解して得られる塩基性ペプチド画分を有効成分とする皮膚コラーゲン産生促進剤。
2. 乳由来の塩基性タンパク質画分が、そのアミノ酸組成中に塩基性アミノ酸を15重量%以上含有している画分である請求項1記載の皮膚コラーゲン産生促進剤。
3. 乳由来の塩基性タンパク質画分が、乳または乳由来の原料を陽イオン交換樹脂に接触させて塩基性タンパク質を吸着させ、この樹脂に吸着した画分を塩濃度0.1～1Mの溶出液で溶出して得られる画分である請求項1乃至2記載の皮膚コラーゲン産生促進剤。
4. 請求項1乃至3のいずれかに記載の乳由来の塩基性タンパク質画分及び／または塩基性ペプチド画分を配合した皮膚コラーゲン産生促進用飲食品。
5. 請求項1乃至3のいずれかに記載の乳由来の塩基性タンパク質画分及び／または塩基性ペプチド画分を配合した皮膚コラーゲン産生促進用化粧料。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/05707

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A61K38/17, A61K35/20, A61P17/00, A61P43/00, A61K7/00,
A61K7/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A61K38/17, A61K35/20, A61P17/00, A61P43/00, A61K7/00,
A61K7/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLus (STN), BIOSIS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), WPI, JOIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E, X	JP 2003-144095 A (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO., LTD.), 20 May, 2003 (20.05.03), (Family: none)	1-5
X	WO 02/5828 A1 (GROPEP LTD.), 24 January, 2002 (24.01.02), Full text & AU 2002/22911 B & EP 1303284 A1	1-5
X	US 6506732 A (UNIV. LAVAL), 14 January, 2003 (14.01.03), & CA 2296311 A1 & US 2003/130195 A	1, 5
X	JP 3-20206 A (TAIYO KAGAKU KABUSHIKI KAISHA), 29 January, 1991 (29.01.91), (Family: none)	1, 5

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
24 July, 2003 (24.07.03)

Date of mailing of the international search report
12 August, 2003 (12.08.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/05707

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/6500 A1 (JOUAN BIOTECHNOLOGIES SA PIERRE), 23 January, 2003 (23.01.03), & FR 2827290 A1	1, 4, 5
Y	WO 03/15724 A1 (SHISEIDO CO., LTD.), 27 February, 2003 (27.02.03), Full text; page 2, lines 17 to 18; page 3, lines 3 to 4 & JP 2003-137767 A & JP 2003-137768 A	1, 5
Y	JP 9-87164 A (SHISEIDO CO., LTD.), 31 March, 1997 (31.03.97), (Family: none)	1-5
A	JP 8-133943 A (KYODO NYUGYO KABUSHIKI KAISHA), 28 May, 1996 (28.05.96), (Family: none)	1-5
A	EP 556083 A1 (SNOW BRAND MILK PROD CO., LTD.), 18 August, 1993 (18.08.93), & JP 5-202098 A & AU 9332059 B & US 5516675 A	1-5
A	MATSUOKA, Y. et al., 'Cystatin C in Milk Basic Protein(MBP) and its inhibitory effect on bone resorption in vitro.', Biosci.Biotechnol.Biochem., 2002, Vol.66, No.12, pages 2531 to 2536	1-5
A	KATO, K. et al., 'Milk basic protein enhances the bone strength in ovariectomized rats.', J.Food Biotechem., 2000, Vol.24, No.6, pages 467 to 476	1-5
A	Yukihiro TAKADA et al., "Hone no Kenko ni Kiyo suru Atarashii Chichi no Chikara:Nyuenki-sei Tanpaku-shitsu(MBP)", Fine Chemical, 2002, Vol.31, No.3, pages 5 to 13	1-5
A	Jun'ichi YAMAMURA et al., "Gyunyu ni Fukumareru Nyuenki-sei Tanpaku-shitsu(MBP) no Aratana Kotsutaisha Kaizen Sayo no Hakken", BRAIN Techno News, 2001, Vol.87, pages 24 to 28	1-5
A	Yasuhiro TOBA et al., "Nyuenki-sei Tanpaku-shitsu (MBP):Hone no Kenko o Sasaeru Gyunyuchu no Shinkina Kino Seibun", Bio Clinica, 2001, Vol.16, No.13, pages 1227 to 1230	1-5

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ A61K38/17, A61K35/20, A61P17/00, A61P43/00, A61K7/00, A61K7/48

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ A61K38/17, A61K35/20, A61P17/00, A61P43/00, A61K7/00, A61K7/48

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), BIOSIS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), WPI, JOIS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
E, X	JP 2003-144095 A (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO LTD) 2003.05.20 (FAMILY:NONE)	1-5
X	WO 02/5828 A1 (GROPEP LTD) 2002.01.24 文献全体 & AU 2002/22911 B & EP 1303284 A1	1-5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

24.07.03

国際調査報告の発送日

12.08.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JPO)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

大久保元浩

4C

8828

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	US 6506732 A (UNIV LAVAL) 2003.01.14 & CA 2296311 A1 & US 2003/130195 A	1,5
X	JP 3-20206 A (TAIYO KAGAKU KK) 1991.01.29 (FAMILY : NONE)	1,5
X	WO 03/6500 A1 (JOUAN BIOTECHNOLOGIES SA PIERRE) 2003.01.23 & FR 2827290 A1	1,4,5
Y	WO 03/15724 A1 (SHISEIDO CO LTD) 2003.02.27 文献全体、p.2 第17-18行、p.3第3-4行 & JP 2003-137767 A & JP 2003-137 768 A	1,5
Y	JP 9-87164 A (SHISEIDO CO LTD) 1997.03.31 (FAMILY : NONE)	1,5
A	JP 8-133943 A (KYODO NYUGYO KK) 1996.05.28 (FAMILY : NONE)	1-5
A	EP 556083 A1 (SNOW BRAND MILK PROD CO LTD) 1993.08.18 & JP 5-202098 A & AU 9332059 B & US 5516675 A	1-5
A	MATSUOKA, Y. et al. 'Cystatin C in Milk Basic Protein(MBP) and its inhibitory effect on bone resorption in vitro.' Bio sci. Biotechnol. Biochem., 2002, vol.66, no.12, p.2531-2536	1-5
A	KATO, K. et al. 'Milk basic protein enhances the bone streng th in ovariectomized rats.' J. Food Biochem., 2000, vol.24, no.6, p.467-476	1-5
A	高田幸宏他 '骨の健康に寄与する新しい乳の力：乳塩基性タンパ ク質 (MBP)' ファインケミカル, 2002, vol.31, no.3, p.5- 13	1-5

C (続き) 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	山村淳一他 ‘牛乳に含まれる乳塩基性タンパク質 (MBP) の新たな骨代謝改善作用の発見’ ブレインテクノニュース, 2001, vol. 87, p. 24-28	1-5
A	鳥羽保宏他 ‘乳塩基性タンパク質 (MBP) : 骨の健康を支える牛乳中の新規な機能成分’ Bio Clinica, 2001, vol. 16, no. 13, p. 1227-1230	1-5